



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94108523.6

[51]Int.Cl⁶

A61K 38/00

[43]公开日 1996年1月24日

[22]申请日 94.7.20

[71]申请人 开纳顿有限公司

地址 爱尔兰都柏林

[72]发明人 沙拉贝W·沙拉贝 史蒂文A·杰克逊
雅克-皮埃尔·莫罗

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 林蕴和

A61K 9/22 A61K 9/52

A61K 47/34 C08G 63/02

C08G 63/78

权利要求书 4 页 说明书 23 页 附图页数 3 页

[54]发明名称 可生物降解聚酯和生物活性多肽的离子
性分子轭合物

[57]摘要

公开一种持续释放的药用组合物。该组合物包括一个含一个与活性多肽离子性地轭合着的游离COOH基团的聚酯,所述活性多肽则含有至少一个有效离子源肽,组合物中的多肽的至少50%(重量)是与聚酯离子性地轭合着的。

权 利 要 求 书

1. 一种含聚酯的组合物，其特征在于，所述聚酯含一个或多个与含至少一个离子源胺的生物活性多肽发生离子性辄合的游离COOH基团，存在于所述组合物中的至少50%(重量)的多肽与所述聚酯发生离子性辄合。

2. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯中的羧基与羟基之比大于1。

3. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯由从下列化合物组中选出的成分构成：L-乳酸，D-乳酸，DL-乳酸， ϵ -己内酯，1,4-二噁烷-2-酮， ϵ -己酸，草酸亚烃酯，草酸环亚烃酯，琥珀酸亚烃酯， β -羧基丁酸酯，有取代或无取代的碳酸三亚甲酯，1,5-二氧杂环庚-2-酮，1,4-二氧杂环庚-2-酮，乙交酯，乙醇酸，L-丙交酯，D-丙交酯，DL-丙交酯，内消旋-丙交酯和任一光学活性异构体，或它们的外消旋体或共聚体。

4. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯用戊二酸酐进行部分酸端基化。

5. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯用戊二酸酐进行全部酸端基化。

6. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯的平均聚合度在10~300之间。

7. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯在氯仿中的粘度约为0.05~0.7dl/g，平均分子量约为1200~40000。

8. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的生物活性多肽占所述离子性分子辄合物的总重量的1~50%。

9. 如权利要求 1 所述的组合物, 其特征在于, 该组合物中的多肽的 85% 以上与聚酯离子性轭合。

10. 如权利要求 1 所述的聚合物, 其特征在于, 其中所述的多肽选自下列化合物组: LHRH, 生长激素释放抑制因子, bombesin (一种促细胞分裂剂)/GRP, 降钙素, 缓激肽, MSH, GRF, 糊精, 速激肽, 胰泌素, PTH, CGRP, neuromedins (神经激肽), PTHrP, 高血糖素, 神经降压素, ACTH, GHRP, GLP, VIP, PACAP, 脑啡肽、PYY, 蠕动素, P 物质, NPY, TSH 和它们的类似物或片断。

11. 如权利要求 1 所述的组合物, 其特征在于, 其中所述的离子性轭合物具有在至少 5 日期间于体内释放有效治疗剂量的所述多肽的能力。

12. 一种合成组合物的方法, 其特征在于, 它包含(a) 提供聚酯和含至少一个有效离子源胺的生物活性多肽, 和(b) 将所述聚酯与所述多肽进行离子性轭合以形成离子性分子轭合物, 其中的多肽离子性地被聚酯轭合。

13. 如权利要求 12 所述的方法, 其特征在于, 组合物中的多肽的至少 50%(重量) 是与聚酯作离子性轭合的。

14. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯具有酸端基化的羟基端基。

15. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的羟基端基部分地被戊二酸酐酸端基化。

16. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的羟基端基全部被戊二酸酐酸端基化。

17. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯在合成时使用羟基聚羧酸链引发剂。

18. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯

说 明 书

可生物降解聚酯和生物活性多肽 的离子性分子轭合物

本发明涉及生物活性多肽的持续释放。

人们为了有控制地在体内释放药物成分，已开发、试验和使用了许多药物传送系统。例如，使用聚(DL-乳酸)、聚乙醇酸、聚(ϵ -己内酯)等聚酯和各种其他共聚物以释放孕酮等生物活性分子。使用所述聚酯等时，采用微胶囊、薄膜、棒条等形式(Pitt CG, Marks, TA, 和 Schindler, A. 1980)。在植入聚合物/治疗剂组合物时，例如皮下或肌肉内植入时，治疗剂在一特定时间内释放。这些具生物相容性、可生物降解的聚合物系统被设计成使被其诱捕的治疗剂可从聚合物基质渗出。治疗剂释放时，聚合物在体内分解，免除了外科去除植入物的手术。尽管影响聚合物降解的因素尚不完全清楚，但人们相信聚酯的这种降解可以通过酯键对聚合物成分的非酶自动催化水解的易接受性加以调控。

EPO Publication 和 US Patent 中已发表了几篇聚合物基质的设计及其在调控治疗剂在体内的释放速率和程度的作用的文章。

例如，Deluca (EPO Publication 0 467 389 A2/肯塔基大学)描述了疏水性可生物降解聚合物与蛋白质或多肽之间的一种物理相互作用。生成的组合物是治疗剂和疏水性聚合物的混合物，它在植入患者体内后，能维持治疗剂从基质的扩散释放。

Hutchinson (US Patent 4,767,628/ICI)通过在聚合物装置内的均匀分散，控制治疗剂的释放。据其所述，这种制剂能通过两相交叠而有控制地连续释放药物：第一，药物从制剂表面的扩散依存

性渗出；第二，药物通过因聚合物降解所致的水性通道进行释放。

一般而言，本发明的特征在于，一种持续释放药物的制剂，它由含一至多个自由羧基的聚酯组成，所述羧基与由至少一个有效的、离子源的胺构成的生物活性多肽进行离子共轭。其中，组合物中的多肽的至少 50% (重量) 与聚酯离子进行离子轭合。

在较佳的实施例中，对聚酯进行修饰，以使羧基对羟基端基的比例从 1 以上增大到接近无穷大，即，所有的羟基都可被羧基取代。来源于下列化合物的聚酯是较合适的聚酯的实例：L-乳酸，D-乳酸，DL-乳酸， ϵ -己内酯，1,4-二噁烷-2-酮， ϵ -己酸，取代和非取代的碳酸三亚甲酯，1,5-二氧杂环庚-2-酮，1,4-二氧杂环庚-2-酮，乙交酯，乙醇酸，L-丙交酯，D-丙交酯，DL-丙交酯，消旋-丙交酯，草酸亚烃酯，草酸环亚烃酯，琥珀酸亚烃酯，(β -羟基丁酸酯)，和任一上述化合物的光学活性异构体、消旋体或共聚物。与传统的聚酯有关的其他杂链聚合物也可使用（例如，聚原酸酯，聚原碳酸酯，聚缩醛）。

聚酯最好通过与苹果酸或柠檬酸反应而被制成多羧基化的聚酯。

在较佳的实施例中，聚酯用戊二（酸）酐部分地加以酸端基化。在另一较佳的实例中，聚酯用戊二（酸）酐全部地加以酸端基化。聚酯的平均聚合度最好在 10~300 间，20~50 间更佳。

本发明的离子性分子轭合物最好由多羧酸端基化的聚酯与含至少一个有效离子源的胺基团的一碱价和多碱价的生物活性多肽轭合而制成。或者，任何聚酯，只要用合适的碱（例如 NaOH）预处理过，都可用以形成本发明的离子性分子轭合物。而且，任何对酸稳定的多肽都可使用，例如，生长激素释放肽 (GHRP)，促黄体激素释放激素 (LHRH)、生长激素释放抑制因子，bombesin（一种促细胞分裂剂），胃泌素释放肽 (GRP)，降钙素，缓激肽，galanin，促黑激素

(MSH)、生长激素释放因子(GRF),糊精,速激肽,胰泌素,甲状旁腺(激)素(PTH),脑啡肽, endothlin,降钙素基因释放肽(CGRP), neuromedins (神经激肽),甲状旁腺(激)素相关肽(PTHrP),高血糖素,神经降压素,促皮质素(ACTH),肽YY(PYY),高血糖素释放肽(GLP),肠血管活性肽(VIP),垂体腺苷酸环化酶激活肽(PACAP),蠕虫素,P物质,神经肽Y(NPY),TSH,和同类物以及它们的片断。这样的离子性分子轭合物可以预定速率在体内释放其生物活性成分,预定速率由化学结构,分子量和这些轭合物的两个成分的pKa决定。药物释放的一种机制要求不溶性轭合物状态转变为水溶性成分,部分地,系通过疏水性聚酯的水解。这样,活性多肽的释放独立地随下列因素而增加:a)活性多肽和聚酯间的pKa差异减小;b)表现在羧基的亲核性上的聚酯链的化学反应性;c)聚酯密度的减小,因为它与玻璃(态)化温度和最小可结晶性有关;和d)基质亲水性的增加。

在较佳实施例中,多肽占离子性分子轭合物的总重量的1~50%,而组合物中的多肽的85%以上,更好的为95%,尤其好的为99%与聚酯离子轭合;离子性分子轭合物中的聚酯成分的氯仿中的粘度约为0.05—0.7dl/gm;且聚酯的平均分子量约为1200—40,000。

本发明的聚合离子性分子轭合物不必运用需要多相乳状液或非水性二相系统的加工操作而可容易地制成可注射微球或微粒、可植入的薄膜或棒条。微粒最好通过a)溶解组合物于非质子性、水可溶的有机溶剂中;b)在水中混入有机溶剂;和c)从水中分离出微粒而制得。在较佳的实施例中,有机溶剂选自下列的组:丙酮,乙腈,四氢呋喃,二甲基甲酰胺,和乙二醇二甲醚。

在较佳实施例中,聚酯/多肽离子性分子轭合物可以在至少20天,最佳可高达70天但不少于7天的期间内,于体内释放有效治疗

剂量的生物活性多肽，在另一些较佳实施例中，治疗用离子性分子轭合物的释放基本上是单相的。

本发明的持续释放组合物最好通过下法制成：a)提供含游离羧基的聚酯和含至少一个有效的离子源的胺的多肽，b)使聚酯与多肽产生离子性轭合以形成离子性分子轭合物，其中，组合物中的多肽的至少85%(重量)与聚酯发生离子性轭合。聚酯可以是含足够量游离羧基的那种聚酯，或者，如果对开始时所需要的肽负载水平而言，只存在不充分的游离羧基数，则聚酯可以a)通过酯化或官能交换，使之与例如苹果酸或柠檬酸反应，或b)用例如戊二(酸)酐使之酸端基化，或3)聚酯可用(例如NaOH)加以处理，以露出酸基团。最后，聚酯/多肽离子性分子轭合物可被转变成可体内释放多肽的可植入的薄膜或棒条，或可注射的微球或微粒。

聚酯最好在多羧基羟基酸(例如苹果酸或柠檬酸)的存在下，通过一个或多个羟基酸(例如乙醇酸和乳酸的催化或自动催化的直接缩合加以合成。由此形成的聚酯具有酸端基化的羟基端基，该端基最好部分地或全部地被酸端基化。

聚酯也可以在链引发剂(例如羟基聚羧酸)的存在下，通过内酯的催化开环聚合反应，或通过 ϵ -己内酯、1,4-二噁烷-2-酮、碳酸三亚甲酯、1,5-二氧杂环庚-2-酮或1,4-二氧杂环庚-2-酮等环状单体的聚合反应加以合成。

另一种合成方法包括将羟基酸与环状二聚体反应，接着，在羧酸的存在下，进行开链系统的缩合。

还有另一种合成方法包括将有机聚羧酸与预先形成的聚酯进行反应。

在上述的较佳实施例中，酸端基化的聚酯的羧基/羟基端基的比例大于1，接近于无穷大(即，消除了所有羟基)，所具平均聚合度在10-300之间，且在特别理想的实施例中，平均聚合度为20-50。

另外，也可以通过用（例如 NaOH）处理，使聚酯具有可与活性多肽形成离子性分子轭合物的能力。

聚酯/多肽离子性分子轭合物最好通过聚酯（例如自由态的）和多肽（例如自由态的）在合适的液体介质中直接相互作用而合成。在其他较佳实施例中，适合于轭合物形成的溶剂是非质子性溶剂（例如丙酮、四氢呋喃、或乙二醇二甲醚）和适合于多肽的溶剂（例如水）的混合液，其比例以使两个系统混溶为准。多肽最好为 pKa 值大于或等于 3.5 的一元酸的盐。而且，多肽最好含有至少一个有效的离子源的胺基团。

在较佳实施例中，多肽占聚酯/多肽离子性分子轭合物的 1—50%（重量），较佳的为 10—20%（重量）。在较佳实施例中，可获得的聚酯的羧基部分地被碱金属离子或有机碱所中和。在另一些较佳实施例中，碱处理造成聚酯的链解离和低分子量结合点的形成。

此处使用的“多肽”一词，是指蛋白质、肽、寡肽或合成寡肽。

此处使用的“多羧基的”一词，是指含一个以上羧基的化合物，例如苹果酸和柠檬酸。

此处所用的“平均聚合度”一词，是指重复的单体序列的数量。

此处所用的“有效离子源的胺”一词，是指含有至少一个在优势条件下，具有形成离子能力的胺的多肽。

此处所用的“酸端基化的”一词，是指含酸末端的化合物。

此处所用的“部分酸端基化的”一词，是指其羟基端基的 1—99% 酸端基化了的化合物。

此处所用的“全部酸端基化的”一词，是指其羟基端基的 99.9% 以上酸端基化了的化合物。

此处所用的“羟基酸”一词，是指含羟基和羧基的任何化合物。

此处所用的“单羧基羟基酸”一词，是指含一个羧基和一个或多个羟基的有机酸。

此处所用的“多羧基羧基酸”一词，是指含一个以上羧基的羧基酸。

此处所用的“有机共沸剂”一词，是指与水共馏的有机液体。

此处所用的“生物活性的”一词，是指引起或影响生物学结果的分子。

此处所用的“无环化”一词，是指由开环产生的化学反应。

此处所用的“缩聚（作用）”一词，是指由两个或多个分子缩合而形成聚酯。

本发明提供了一种新的药物组合物，该组合物将生物相容性的、可生物降解的聚酯与寡肽、多肽、肽和/或蛋白质进行结合，形成均一的离子性物种。通过将不同分子量的聚酯与治疗剂进行化学结合，可更准确地使组合物的化学特性适合在体内有控制地单相释放生物活性多肽分子的要求。而且，可容易地使本发明的组合物最优化，以使其具有的官能性能负载更多量的治疗用活性多肽。

对本发明的其他特性和优点，通过下面的较佳实施例的详细描述和权利要求进行说明。

图 1 表示多羧酸端基化了的丙交酯/乙交酯（苹果酸型）共聚物。

图 2 表示描述丙交酯/乙交酯（苹果酸型）共聚物与（BIM-23014）相互作用的离子性分子轭合物。

图 3 为描述于 37°C 下、在 28 日间，从离子性分子轭合物释放出的肽的百分比的图表。

<合成>

通过选择合适的结构单体、共聚[用]单体或共聚物形成具有预定的组成和分子量的链，使可生物降解或可吸收的聚酯具有所希望的化学活性；以提供有控制的链水解性并显示出与在生理 pH 时，拥有净负电荷的寡肽、多肽或蛋白质的最大的结合能力（参见图 2

表 IV：由官能互换制备的聚酞

N 型聚酞		进料量	聚合条件	酸值	固有粘度 7inh	T _g , °C
聚合物						
1	Boehringer A001 柠檬酸 ^{**}	8gm(50/50dl-丙交酯/乙交酯) 0.8gm(0.00417M)	150°C/5hrs	670	0.26	25

* 用差示扫描量热计 (TA 2100 DSC) 测定
(试样: 2-10mg, 加热速率: 10°C/min, 氮气中)

** 分析量的辛酸亚锡 (0.33M 溶液 2 滴, 约 0.03nmole)

适合于本发明的聚酯的合成的其他单体有: L-乳酸, DL-乳酸, ϵ -己内酯, 1,4-二噁烷-2-酮, ϵ -己酸, 碳酸三亚甲酯, 1,4-二氧杂环庚-2-酮, 1,4-二氧杂环庚-2-酮, 乙交酯和消旋-丙交酯。有用的多羧基链引发剂和/或链改性剂的例子包括: 苹果酸和柠檬酸。

2) 通过多羧酸端基化了的聚酯和生物活性多肽的离子相互作用进行的聚酯/多肽离子轭合物的合成。

上述的多羧酸端基化的可生物降解的聚酯被用于与带可获得的有效离子源的胺基的单羧基或多羧基的寡肽、多肽或蛋白质形成离子性分子轭合物 (参见图 2)。而且, 要使任何聚酯具有与多肽形成离子性分子轭合物的能力, 除非聚酯被碱 (例如 0.1N NaOH) 处理。这些处理使聚酯的酸基团露出, 以与阳离子性多肽产生多部位离子相互作用。

这样, 在有或没有用无机碱对聚酯进行预处理、以使聚酯与碱性药物的结合额定量达到最大的情况下, 通过在合适溶剂中的成分的直接分子相互作用, 形成这些轭合物。如前面指出的那样, 这些离子轭合物成分的离子相互作用, 随着它们的 pK_a 值的差值而增大。

1. 在所有情况中, 以丙酮作为溶剂, 氢氧化钠作为碱, 轭合物如教科书中描述的那样而形成。使用的所有肽皆为其醋酸盐。

2. 肽: I BIM-21003 D-Trp⁶-LHRH(pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly NH₂) pka = 10.1

II BIM-23014 (H₂N-β-D-Nal-Cys-Tyr-Trp-Lys-Val-Cys-Thr NH₂)
pka = 9.8

III BIM-26226 (H₂N-D-F₅ Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-OCH₃)
pka = 8.0

3. 保留值: 通过用去离子水冲洗干燥的聚酯/多肽离子轭合物和对溶解于清洗水中的肽用 HPLC 进行定量而测定。

$$\text{保留值(\%)} = \frac{(\text{负载的肽-溶解的肽}) \text{的重量}}{\text{负载的肽的重量}}$$

3) 将离子轭合物转换成能在体内以单相型释放治疗剂至少 20 日的植入物、棒条、微球或微粒。

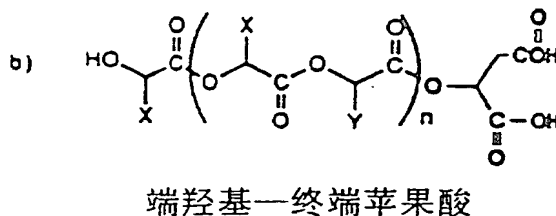
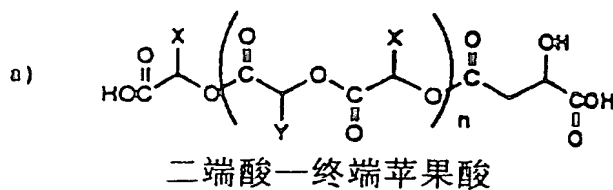
本发明的离子轭合物可以转换成 A) 含 1~50%(重量)多肽的无菌的可注射的微球(有或没有 0.1~10% 的固体多羟基醇作为操作助剂);所述的多肽可基本上按照单相型进行释放并在 1~12 周内持续药理活性。b) 在有或没有无药理活性的操作助剂的情况下, 通过浇铸、压模或挤压, 制成与 A) 中所述相同的、可提供释放外形的无菌的可植入的薄膜; 和 c) 通过挤压或压模制成的、与 A) 中所述相同的、可提供释放外形的无菌的可植入的棒条。

体外释放试验:

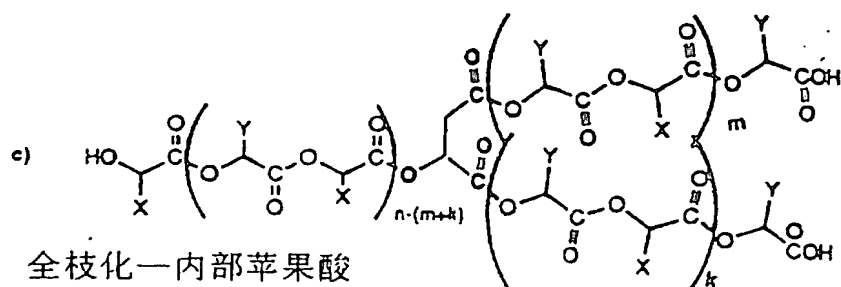
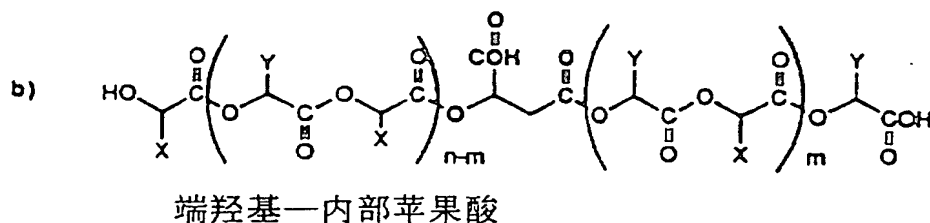
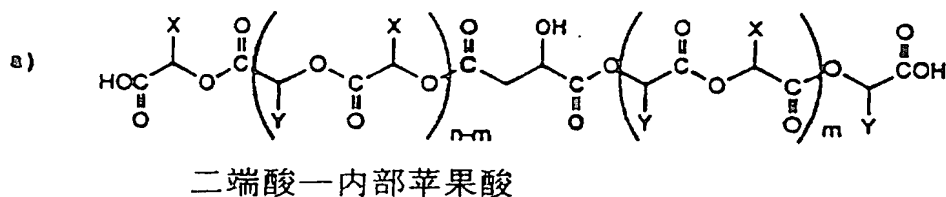
干燥的研过的离子轭合物试样各 50mg, 置入直径 25mm 的闪烁管中, 再在各个管内加入 5ml 的改进型 PBS 缓冲液(PBS 缓冲

具有多羧酸端基化的链的乳酸酯/乙醇酸酯型聚合物的形状

I. 线性链



II. 枝链



Y=乳酸时为 CH₃, 乙醇酸时为 H; X=乙醇酸时为 H, 乳酸时为 CH₃
X+Y 的分布是分子式依存性和聚合依存性的

离子性轭合物的实施例

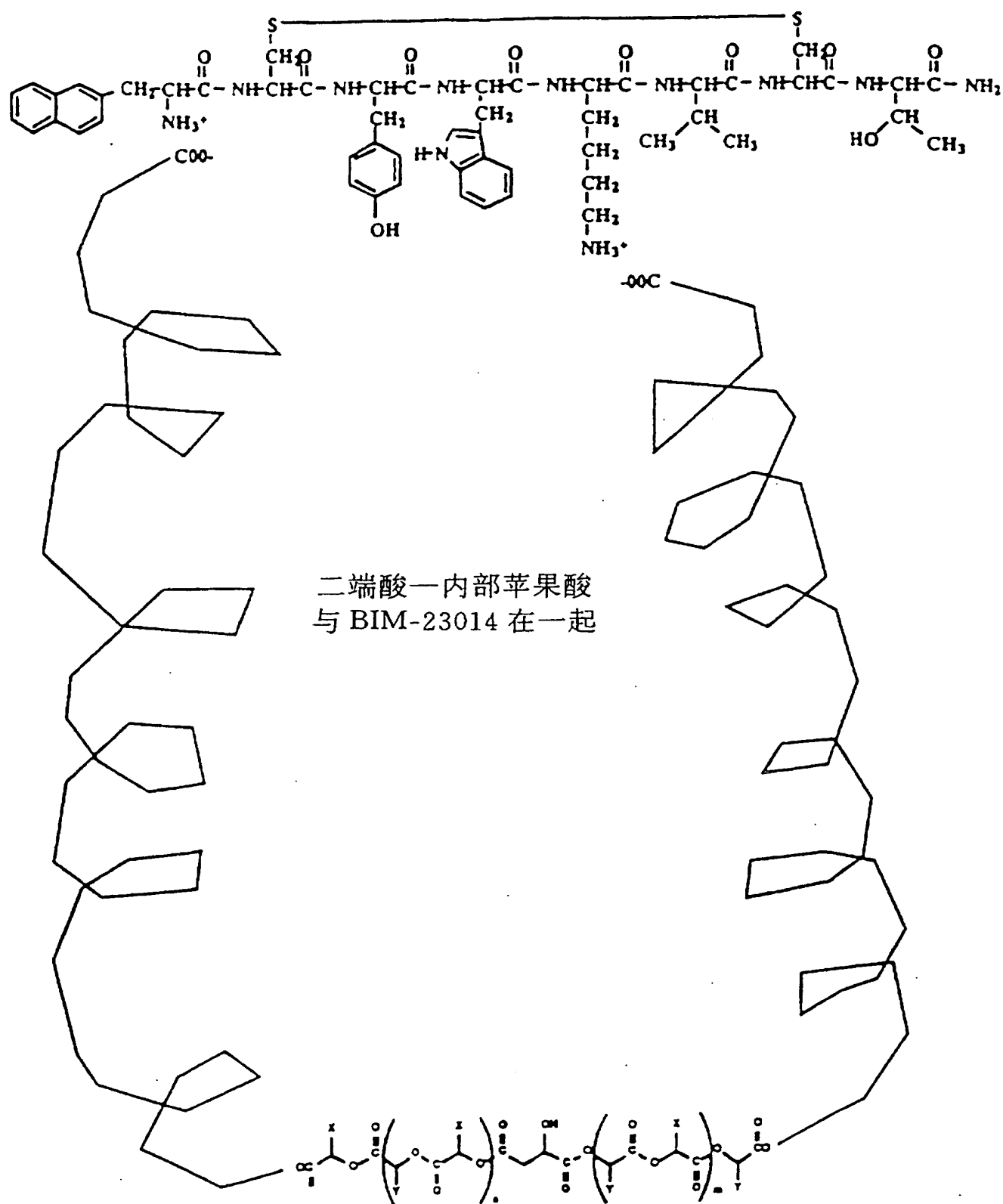


图 2

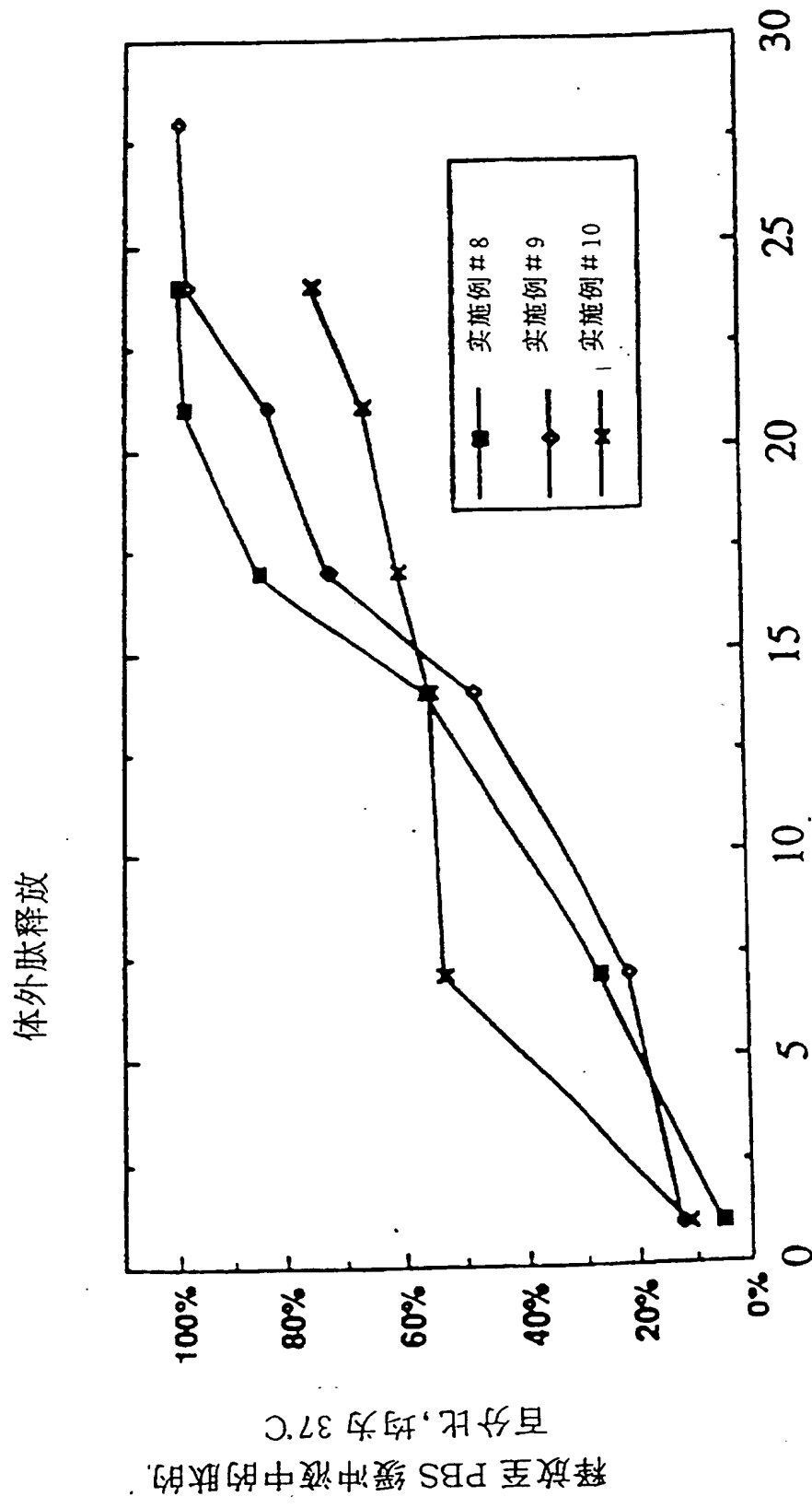


图 3